Lane Medical Library

Über die chemische Reaktionsfähigkeit des Thyroxins, Dijodtyrosins und verwandter Körper im besonderen Hinblick auf charakteristische Farbreaktionen.

(Auszug)

Eingereicht
zur Erlangung der Würde eines Dr. med. habil.
in der Medizinischen Fakultät der
Universität Gießen

von

Dr. med. et phil. Walter Komant.

Gießen 1936
Druckerei Wilh. Herr, Gießen

1. In der Einleitung werden die zur Zeit gebräuchlichsten pharmakologischen, serologischen sowie chemischen Nachweis- und Bestimmungsmöglichkeiten des Thyroxins und 3,5-Dijodtyrosins besprochen.

2. Thyroxin und 3,5-Dijodtyrosin geben wider Erwarten eine Diazoreaktion, wobei Monooxyazofarbstoffe gebildet werden. Da die für den Eintritt des Diazoniumrestes in Frage kommenden Ortho- und Parastellen besetzt sind, handelt es sich um eine atypische Diazoreaktion. Sie wird dadurch ermöglicht und verständlich, daß ein Jodatom in Form von Jodwasserstoff eleminiert und durch die Diazogruppe ersetzt wird. Anbetracht der chemischen Gleichwertigkeit der beiden Orthostellen kann nur ein Monoazofarbstoff des 3,5-Dijodtyrosins entstehen. Betreffs des Eintrittes der Diazogruppe in das aus zwei Benzolkernen bestehende Thyroxin erscheint uns auf Grund bisheriger Studien der Ersatz eines orthoständigen Jodatoms im Ring mit der Phenolgruppe ausreichend gesichert.

Überraschenderweise sind trotz der festeren Bindung der Halogene Brom und Chlor im Benzolkern sogar die entsprechende Brom- und Chlorverbindungen des Thyroxins und 3,5-Dijodtyrosins zur Diazoreaktion befähigt. Sie reagieren analog dem Thyroxin und 3,5-Dijodtyrosin unter Abspaltung von Halogenwasserstoff. Derartige Ausnahmen von der Kuppelungsregel sind bisher bei Halogenphenolen in der Literatur nicht beschrieben worden.

Bei geeigneter Wahl des Diazoniumsalzes bilden Thyroxin und 3,5-Dijodtyrosin verschiedenartig gefärbte Azofarbstoffe, die eine Differenzierung der im Stoffwechselgeschehen antagonistisch wirkenden Substanzen erlauben. Es kuppelt 2,4-Dichlorbenzoldiazoniumsalz mit Thyroxin violett und mit 3,5-Dijodtyrosin rot. Die Empfindlichkeit beider Reaktionen beträgt nahezu 1 : 100 000.

Zum Nachweis des im Eiweiß gebundenen Thyroxins und 3,5-Dijodtyrosins mittels der Diazoreaktion ist es notwendig infolge Beeinträchtigung derselben durch gewisse Stoffe, zuerst eine Abtrennung der beiden jodhaltigen Aminosäuren auf hydrolytischem Wege nach Harington oder Blau vorzunehmen. Insbesondere stören die in weit größeren Mengen vorhandenen Aminosäuren Tyrosin und Histidin, die ebenfalls eine Diazoreaktion geben und deshalb die Anwesenheit von Thyroxin und 3,5-Dijodtyrosin gewissermaßen maskieren.

Nach der alkalischen Hydrolyse von Thyroxin ist 3,5 Dijodtyrosin nur in Spuren nachzuweisen. Da Eiweißzusatz die Zerstörung des Thyroxins durch kochende Lauge vermindert, ist die Bildung nennenswerter Mengen 3,5-Dijodtyrosin beim Hydrolysieren von Schilddrüsengewebe um so weniger wahrscheinlich.

3. Es wurde das dem Tyroxin sehr nahe stehende 3,5-Dijodthyronin, welches lediglich zwei Jodatome weniger besitzt, und das Thyronin, die jodfreie Verbindung des Thyroxins, wegen der vielfach diskutierten Möglichkeiten ihres Vorkommens in der Schilddrüse in den Kreis unserer Untersuchungen einbezogen. Bemerkenswerterweise zeigen diese beiden Aminosäuren erhebliche Unterschiede ihres Lösungsvermögens in Säuren und n-Butylalkohol, die sowohl eine leichte Trennung voneinander als auch vom Schilddrüsenhormon gestatten. So gelingt es mittels geringen Erwärmens in 20-volumprozentiger Schwefelsäure kolloidales Dijodthyronin (es fällt aus alkalischer Lösung beim Ansäuern kolloidal aus) rasch in Lösung zu bringen und gänzlich vom säureunlöslichen Thyroxin abzutrennen. Ein anderes Trennungsverfahren macht sich die Unlöslichkeit des 3,5-Dijodthyronins und das große Lösungsvermögen des Thyroxins in n-Butylalkohol zunutze.

Kolloidales Thyronin löst sich leicht in $2^1/_2$-volumprozentiger Schwefelsäure bei gewöhnlicher Temperatur, während Thyroxin und 3,5-Dijodthyronin zurückbleiben. Aus dem Filtrat ist das Thyronin leicht zu isolieren. Das abfiltrierte Thyroxin und 3,5-Dijodthyronin werden in der oben angegebenen Weise geschieden. Mit n-Butylalkohol ist Thyronin ebenso wenig ausschüttelbar wie 3,5-Dijodthyronin.

Die Diazoreaktionen des 3,5-Dijodthyronins und des Thyronins verlaufen völlig regelrecht, weil die für die Kuppelung in Frage kommenden Stellen frei sind.

4. Charakteristische Komplexsalzbildung des Thyroxins und 3,5-Dijodtyrosins mit salpetriger Säure und Schwermetallen. Ihrem chemischen Verhalten und der Analyse nach gehören die Komplexverbindungen den ortho-Chinonmomoximen an, deren große Befähigung zur Bildung innerer komplexer Metallsalze bekannt ist. Die Empfindlichkeit des Nachweises für Komplexsalzreaktionen des 3,5-Dijodtyrosins ist erheblich größer als die des Thyroxins. So beträgt sie für das Nickelkomplexsalz des 3,5-Dijodtyrosins 1 : 500 000, jedoch für die entsprechende Thyroxinverbindung nur 1 : 40 000.

3,5-Dijodtyrosin vermag mit Salpetriger Säure und gewissen Komplexsäuren (Molybdänsäure und Phosphormolybdänsäure) noch eine Gruppe anders konstituierter Komplexverbindungen vom offenen Typus zu bilden. Analysenergebnisse und chemisches Verhalten dieser Stoffe sprechen für das Vorliegen ana-

loger Komplexverbindungen, wie sie bei der Einwirkung von Molybdänsäure auf Phenole von anderer Seite erhalten worden sind. Bekanntlich hat das 3,5-Dijodtyrosio zugleich Phenolcharakter. Einer der wesentlichsten Unterschiede der inneren und offenen Komplexsalze des 3,5-Dijodtyrosins liegt in der verschiedenen Natur des komplexbildenden Zentralions begründet. Im ersteren Falle ist es nämlich ein Kation und im letzteren ein Anion.

Thyroxin und 3,5-Dijodtyrosin weisen in der Komplexsalzbildung und in den chemischen Eigenschaften der Komplexverbindungen wesentliche Unterschiede auf, die für den Nachweis dieser Aminosäuren von großer praktischer Bedeutung sind. Abweichend vom 3,5-Dijodtyrosin fällt die Komplexsalzreaktion des Thyroxins mit Molybdänsäure, Siber-, Quecksilber- und Bleisalzen unter den üblichen Reaktionsbedingungen negativ aus. Zudem sind die Komplexsalze des Thyroxins in saurer Lösung unlöslich und die Grenzen ihres Nachweises liegen gegenüber dem 3,5-Dijodtyrosin viel niedriger.

Als störende Faktoren haben sich bei der Komplexsalzbildung des 3,5-Dijodtyrosins und Thyroxins überschüssige salpetrige Säure sowie die drei Aminosäuren Tyrosin, Cystein und Tryptophan erwiesen. Deshalb empfiehlt sich beim Nachweis von 3,5-Dijodtrosin in Eiweiß letzteres erst zu hydrolysieren und die jodhaltige Aminosäure mittels Phosphorwolframsäure oder ammoniakalischen Bleiazetats abzutrennen. Nach Zerlegung des Niederschlages mit Barytlauge, bzw. Schwefelsäure, wird im Filtrat die Farbreaktion auf Dijodtyrosin angestellt.

5. Die Kendall'sche Reaktion (rote Farbreaktion des Thyroxins und Dijodtyrosins beim Behandeln mit Natriumnitrit, Salzsäure und Ammoniak) beruht auf Entstehung von ortho-Nitrosophenolen, bzw. den ihn tautomeren ortho-Chinonmonoximen, und einfacher Salzbildung.

6. Das eigentliche Wesen der bekannten Millon'schen Reaktion und ihrer Modifikation nach O. Nasse sehen wir auf Grund unserer Studien in Bildung komplexer Quecksilberverbindungen vom Typ der oben beim 3,5-Dijodtyrosin beschriebenen inneren Komplexsalze. Da die Millon'sche Probe in der Wärme ausgeführt wird und die dabei entstehenden Reaktionsprodukte ziemlich hitze- und säureempfindlich sind, ist die Möglichkeit weiterer Veränderungen der Quecksilberkomplexsalze gegeben.